

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
 United States Patent and Trademark
 Office
 Box PCT
 Washington, D.C. 20231
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 23 October 2000 (23.10.00)	
International application No. PCT/EP00/00978	Applicant's or agent's file reference 9906920-Bzmi
International filing date (day/month/year) 08 February 2000 (08.02.00)	Priority date (day/month/year) 19 February 1999 (19.02.99)
Applicant LINXWEILER, Winfried et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:
 24 August 2000 (24.08.00)

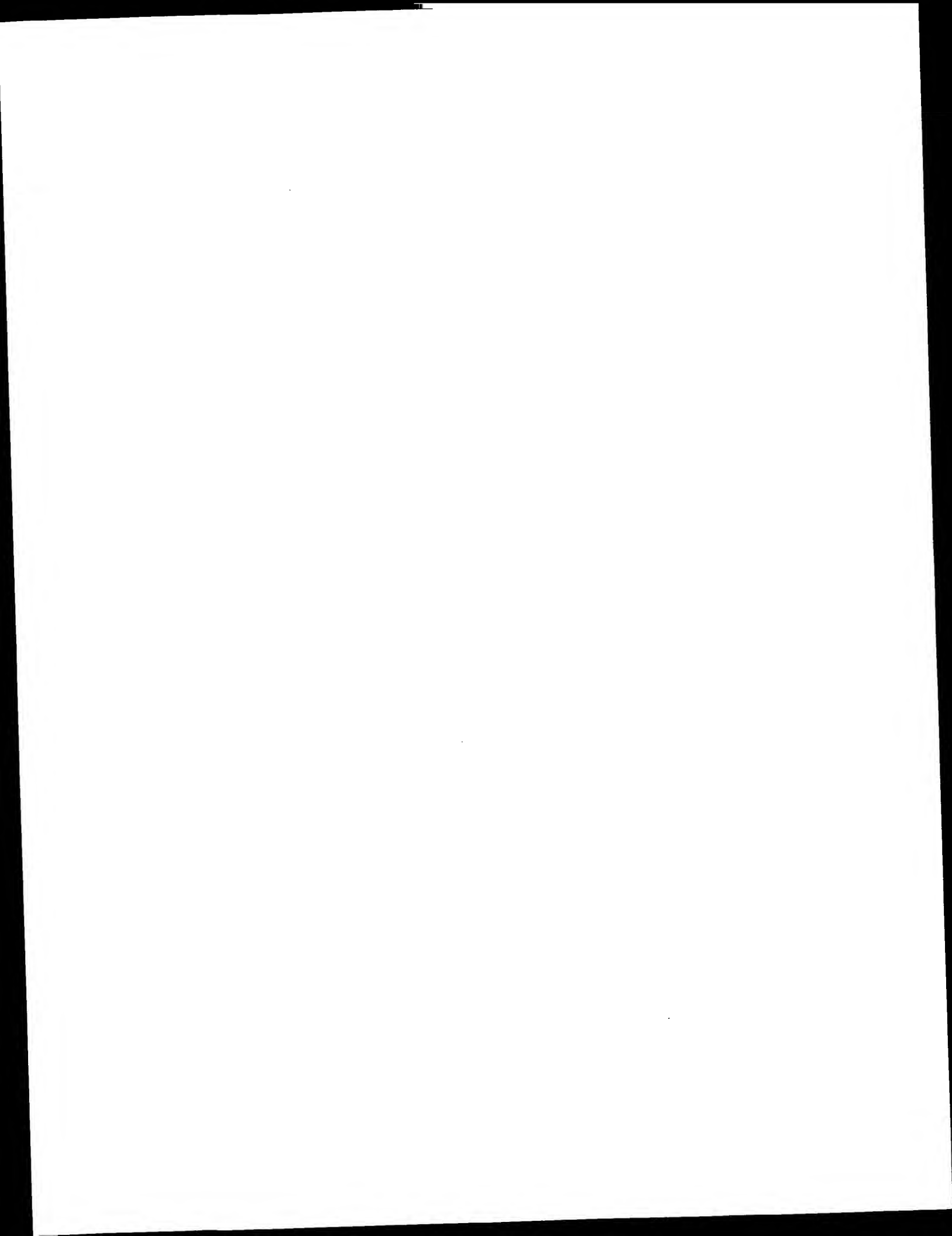
☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer Kari Huynh-Khuong Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---



(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
24. August 2000 (24.08.2000)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 00/49039 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 15/65,
15/62, 9/04, C07K 14/00, G01N 27/26, C12Q 1/32

(74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH;
D-64271 Darmstadt (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/00978

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AL, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN,
IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV,
MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US,
UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(22) Internationales Anmeldedatum:
8. Februar 2000 (08.02.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 06 920.4 19. Februar 1999 (19.02.1999) DE

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasis-
ches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI,
FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US*): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter
Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE).

Veröffentlicht:

— Mit internationalem Recherchenbericht.

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): LINXWEILER, Win-
fried [DE/DE]; Bahnhofstrasse 48, D-64823 Gross-Um-
stadt (DE). BURGER, Christa [DE/DE]; Carsonweg 23,
D-64289 Darmstadt (DE). PÖSCHKE, Oliver [DE/DE];
Paracelsusweg 7, D-65203 Wiesbaden (DE). HOFMANN,
Uwe [DE/DE]; Hähnleinerstr. 42, D-64665 Alsbach (DE).
WOLF, Andrea [DE/DE]; Lahrer Str. 15a, D-68239
Mannheim (DE).

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 14. Dezember 2000

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: GLUCOSE DEHYDROGENASE FUSION PROTEINS AND THEIR UTILIZATION IN EXPRESSION SYSTEMS

(54) Bezeichnung: GLUCOSE-DEHYDROGENASE-FUSIONS-PROTEINE UND IHRE VERWENDUNG IN EXPRESSIONS-
SYSTEMEN

(57) Abstract: The invention relates to novel recombinant fusion proteins containing a protein sequence having the biological ac-
tivity of glucose dehydrogenase as one of its constituents and to their utilization for simple and efficient detection of any type of
proteins/polypeptides in SDS-Page gels and for quick optimization of expression systems that can express the above-mentioned pro-
teins/polypeptides.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft neue rekombinante Fusionsproteine, welche als ein Bestandteil eine Proteinsequenz
mit der biologischen Aktivität von Glucose-Dehydrogenase enthalten sowie ihre Verwendung zum einfachen und effizienten Nach-
weis von beliebigen Proteinen/Polypeptiden in SDS-PAGE-Gelen und zur raschen Optimierung von Expressionssystemen, welche
besagte Proteine/Polypeptide zu exprimieren in der Lage sind.

WO 00/49039 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter national Application No
PCT/EP 00/00978

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/65 C12N15/62 C12N9/04 C07K14/00 G01N27/26
C12Q1/32

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, PAJ, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 290 768 B (MERCK PATENT GMBH) 19 January 1994 (1994-01-19) cited in the application examples 4,9,10	1,4-6
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 199838 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 1998-447222 XP002144211 & WO 98 35025 A (KANEKA CORP), 13 August 1998 (1998-08-13) abstract	1,2,4-9, 11,12
	-/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 August 2000

Date of mailing of the international search report

18/08/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mateo Rosell, A.M.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Patent Application No

PCT/EP 00/00978

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 198844 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D16, AN 1988-311973 XP002144192 & JP 63 230098 A (FUJITSU LTD), 26 September 1988 (1988-09-26) abstract</p>	1,7,8, 13,14
A	<p>RYGUS T ET AL: "INDUCIBLE HIGH-LEVEL EXPRESSION OF HETEROLOGOUS GENES IN BACILLUS-MEGATERIUM USING THE REGULATORY ELEMENTS OF THE XYLOSE-UTILIZATION OPERON" APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY, vol. 35, no. 5, 1991, pages 594-599, XP000933839 ISSN: 0175-7598 the whole document</p>	1,2,4-9, 11,12,14
A	<p>FUJITA Y ET AL: "LOCATION AND PROPERTIES OF GLUCOSE DEHYDROGENASE EC-1.1.1.47 IN SPORULATING CELLS AND SPORES OF BACILLUS-SUBTILIS" JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol. 132, no. 1, 1977, pages 282-293, XP000933845 EN ISSN: 0021-9193 abstract page 286, right-hand column, last paragraph -page 287, left-hand column, paragraph 1; figure 2</p>	13,14
A	<p>SINHA P ET AL: "USE OF PHYSIOLOGICAL SUBSTRATES FOR ZYMOGRAMS OF DISACCHARIDASES AFTER SEPARATION IN IMMOBILIZED PH GRADIENTS" JOURNAL OF BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL METHODS, vol. 18, no. 3, 1989, pages 195-208, XP000933838 ISSN: 0165-022X the whole document</p>	13
A	<p>NAGAO T ET AL: "CLONING NUCLEOTIDE SEQUENCES AND ENZYMATIC PROPERTIES OF GLUCOSE DEHYDROGENASE ISOZYMES FROM BACILLUS-MEGATERIUM IAM1030" JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol. 174, no. 15, 1992, pages 5013-5020, XP000933848 ISSN: 0021-9193 the whole document</p>	1,4-9

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/00978

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	HOPP T P ET AL: "A SHORT POLYPEPTIDE MARKER SEQUENCE USEFUL FOR RECOMBINANT PROTEIN IDENTIFICATION AND PURIFICATION" BIO/TECHNOLOGY, vol. 6, 1 October 1988 (1988-10-01), pages 1204-1210, XP002046115 the whole document	3
P,A	EP 0 967 271 A (KANEGAFUCHI CHEMICAL IND) 29 December 1999 (1999-12-29) page 6, line 41-48; examples 9-12	1,2,4-9, 11,12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/00978

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0290768 B	17-11-1988	DE 3711881 A DE 3887197 D EP 0290768 A ES 2061536 T JP 2729628 B JP 63269979 A US 5126256 A US 5250415 A	27-10-1988 03-03-1994 17-11-1988 16-12-1994 18-03-1998 08-11-1988 30-06-1992 05-10-1993
WO 9835025 A	13-08-1998	AU 4032997 A EP 0967271 A	26-08-1998 29-12-1999
JP 63230098 A	26-09-1988	NONE	
EP 0967271 A	29-12-1999	AU 4032997 A WO 9835025 A	26-08-1998 13-08-1998

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int. l. nales Aktenzeichen

PCT/EP 00/00978

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/65 C12N15/62 C12N9/04 C07K14/00 G01N27/26
C12Q1/32

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, BIOSIS, PAJ, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	EP 0 290 768 B (MERCK PATENT GMBH) 19. Januar 1994 (1994-01-19) in der Anmeldung erwähnt Beispiele 4,9,10	1,4-6
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 199838 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 1998-447222 XP002144211 & WO 98 35025 A (KANEKA CORP), 13. August 1998 (1998-08-13) Zusammenfassung	1,2,4-9, 11,12

-/-

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

3. August 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

18/08/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Mateo Rosell, A.M.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inter. Anz. Altkennzeichen

PCT/EP 00/00978

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Erfindung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 198844 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D16, AN 1988-311973 XP002144192 & JP 63 230098 A (FUJITSU LTD), 26. September 1988 (1988-09-26) Zusammenfassung</p>	1,7,8, 13,14
A	<p>RYGUS T ET AL: "INDUCIBLE HIGH-LEVEL EXPRESSION OF HETEROLOGOUS GENES IN BACILLUS-MEGATERIUM USING THE REGULATORY ELEMENTS OF THE XYLOSE-UTILIZATION OPERON" APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY, Bd. 35, Nr. 5, 1991, Seiten 594-599, XP000933839 ISSN: 0175-7598 das ganze Dokument</p>	1,2,4-9, 11,12,14
A	<p>FUJITA Y ET AL: "LOCATION AND PROPERTIES OF GLUCOSE DEHYDROGENASE EC-1.1.1.47 IN SPORULATING CELLS AND SPORES OF BACILLUS-SUBTILIS" JOURNAL OF BACTERIOLOGY, Bd. 132, Nr. 1, 1977, Seiten 282-293, XP000933845 EN ISSN: 0021-9193 Zusammenfassung Seite 286, rechte Spalte, letzter Absatz -Seite 287, linke Spalte, Absatz 1; Abbildung 2</p>	13,14
A	<p>SINHA P ET AL: "USE OF PHYSIOLOGICAL SUBSTRATES FOR ZYMOGRAMS OF DISACCHARIDASES AFTER SEPARATION IN IMMOBILIZED PH GRADIENTS" JOURNAL OF BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL METHODS, Bd. 18, Nr. 3, 1989, Seiten 195-208, XP000933838 ISSN: 0165-022X das ganze Dokument</p>	13
A	<p>NAGAO T ET AL: "CLONING NUCLEOTIDE SEQUENCES AND ENZYMATIC PROPERTIES OF GLUCOSE DEHYDROGENASE ISOZYMES FROM BACILLUS-MEGATERIUM IAM1030" JOURNAL OF BACTERIOLOGY, Bd. 174, Nr. 15, 1992, Seiten 5013-5020, XP000933848 ISSN: 0021-9193 das ganze Dokument</p>	1,4-9

-/--

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inter nales Aktenzeichen

PCT/EP 00/00978

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>HOPP T P ET AL: "A SHORT POLYPEPTIDE MARKER SEQUENCE USEFUL FOR RECOMBINANT PROTEIN IDENTIFICATION AND PURIFICATION" BIO/TECHNOLOGY, Bd. 6, 1. Oktober 1988 (1988-10-01), Seiten 1204-1210, XP002046115 das ganze Dokument</p>	3
P,A	<p>EP 0 967 271 A (KANEGAFUCHI CHEMICAL IND) 29. Dezember 1999 (1999-12-29) Seite 6, Zeile 41-48; Beispiele 9-12</p>	1,2,4-9, 11,12

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/00978

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0290768 B	17-11-1988	DE 3711881 A	27-10-1988
		DE 3887197 D	03-03-1994
		EP 0290768 A	17-11-1988
		ES 2061536 T	16-12-1994
		JP 2729628 B	18-03-1998
		JP 63269979 A	08-11-1988
		US 5126256 A	30-06-1992
		US 5250415 A	05-10-1993
WO 9835025 A	13-08-1998	AU 4032997 A	26-08-1998
		EP 0967271 A	29-12-1999
JP 63230098 A	26-09-1988	KEINE	
EP 0967271 A	29-12-1999	AU 4032997 A	26-08-1998
		WO 9835025 A	13-08-1998

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 9906920-Bzmi	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 00/ 00978	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 08/02/2000	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 19/02/1999

Anmelder

MERCK PATENT GMBH et al.

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.



Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.



Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das



in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.



zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.



Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2.



Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3.



Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. _____



wie vom Anmelder vorgeschlagen



weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.



weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.



keine der Abb.

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 9906920-Bzmi	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP00/00978	International filing date (day/month/year) 08 February 2000 (08.02.00)	Priority date (day/month/year) 19 February 1999 (19.02.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/65, 15/62, 9/04, C07K 14/00, G01N 27/26, C12Q 1/32		
Applicant MERCK PATENT GMBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>7</u> sheets, including this cover sheet. <input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of _____ sheets.
3. This report contains indications relating to the following items: I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report II <input type="checkbox"/> Priority III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI <input checked="" type="checkbox"/> Certain documents cited VII <input checked="" type="checkbox"/> Certain defects in the international application VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 24 August 2000 (24.08.00)	Date of completion of this report 02 April 2001 (02.04.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/00978

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:
 pages _____ 1-36 _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
 pages _____ 1-17 _____, as originally filed
 pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the drawings:
 pages _____ 1/9-9/9 _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the sequence listing part of the description:
 pages _____ 37-49 _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item. These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☒ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☒ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☒ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

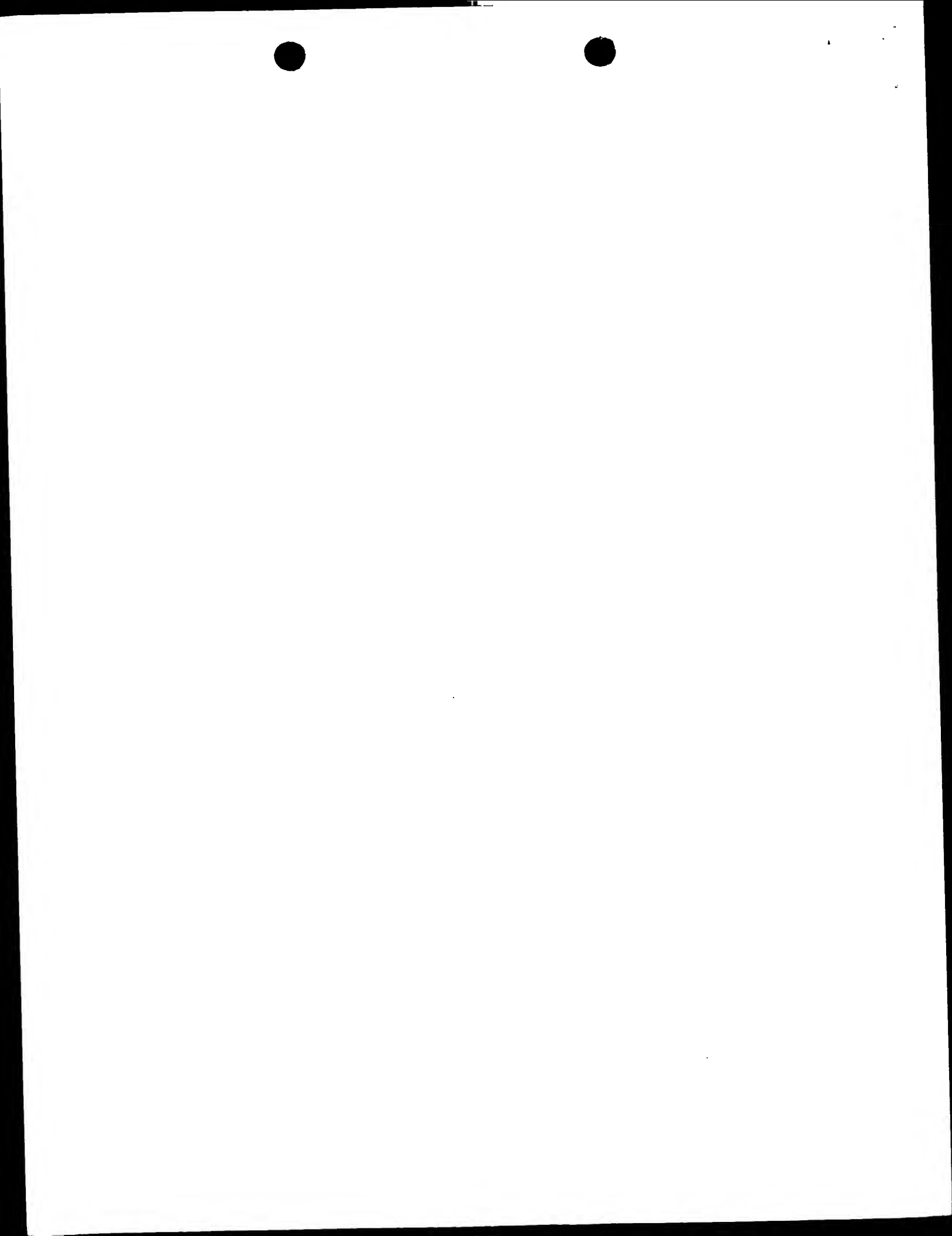
4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 00/00978

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: Box I.1

This report has considered the sequence protocol on pages
37-49 (Seq ID nos. 1-14).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 00/00978

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-17	YES
	Claims	-	NO
Inventive step (IS)	Claims	7-17	YES
	Claims	1-6	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-17	YES
	Claims	-	NO

2. Citations and explanations

This report makes reference to the following documents:

D1: APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY, Vol. 35, No. 5, 1991, pages 594-599

D2: BIO/TECHNOLOGY, Vol. 6, 1 October 1988 (1988-10-01), pages 1204-1210.

The priority of the present application is valid.

The present invention relates to recombinant fusion proteins comprising at least two parts: a target protein and glucose dehydrogenase (GlcDH) as marker or detector protein. The invention was based on the observation that GlcDH is outstandingly stable in relation to denaturing agents such as SDS (application: page 1, second paragraph). Target proteins can also be produced as fusion proteins at a higher yield and with greater stability with GlcDH (application: page 1, third paragraph).

1. Novelty (PCT Article 33(2)):

Claim 1 is novel, since none of the available documents discloses a recombinant fusion protein comprising a sequence with the biological activity of GlcDH. **Claims 2-**

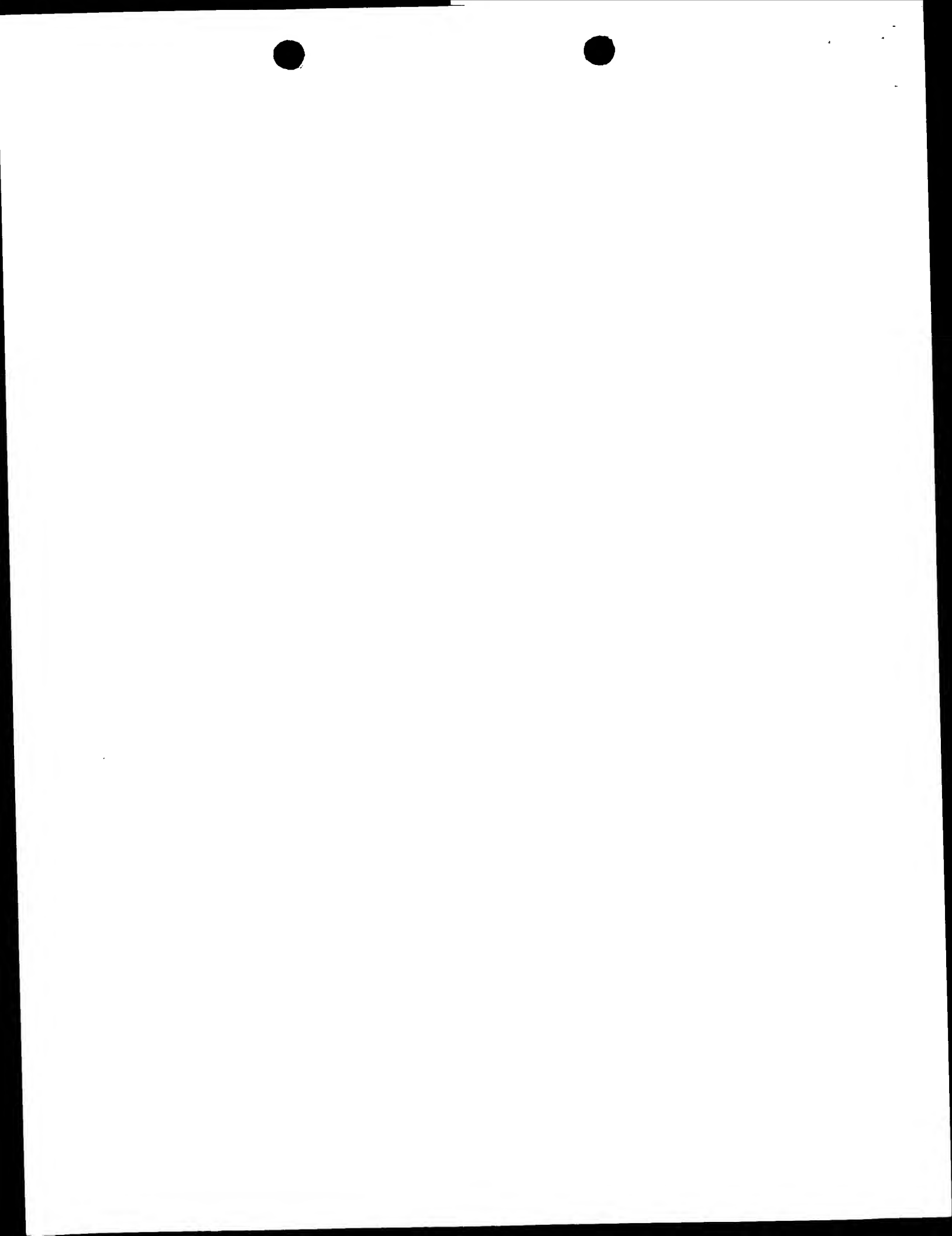
17 are accordingly also novel, since they are all based on a fusion protein of this kind or the DNA which codes for it.

2. Inventive step (PCT Article 33(3)):

2.1 **Claim 1** does not appear to satisfy the requirements of PCT Article 33(3) for the following reasons.

D1, which is considered to be the closest prior art, describes the overexpression of heterologous genes in *Bacillus megaterium*. Amongst other things it also discloses the recombinant expression of glucose dehydrogenase and the expression of fusion proteins comprising mutarotase and a peptide comprising 4 amino acids (see D1: Fig. 3). The subject matter of Claim 1 differs from the disclosure in D1 in that D1 does not describe a fusion protein comprising GlcDH and a further amino acid sequence.

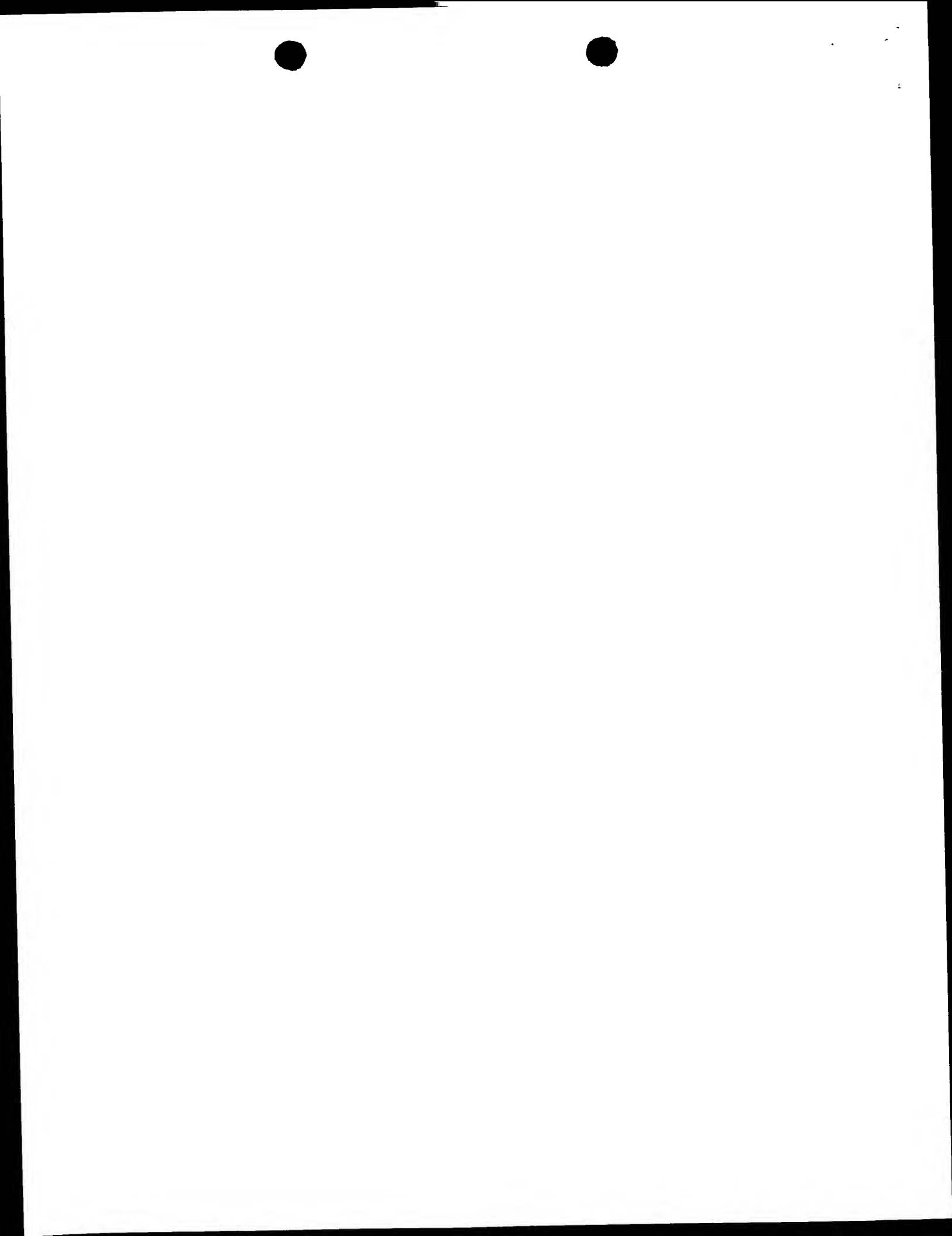
The fusion of a second amino acid sequence onto the GlcDH sequence does not *per se* appear to solve a problem. It does not therefore appear to meet the requirements of PCT Article 33(3) for the following reasons. The scope of Claim 1 also includes, for example, fusion proteins e.g. containing only one additional signal sequence or one tag (e.g. 6x His) which make the specific targeting or the purification of the recombinant fusion protein easier. These fusion proteins, which are well-known to a person skilled in the art (e.g. D2: page 1204, column 1), are not, however, covered by the present invention, which solves the problem of providing an alternative marker and detection protein for recombinant expression systems.



Since **product Claims 2-6** contain the general feature fusion protein comprising GlcDH and a second sequence, these claims likewise appear not to involve an inventive step (PCT Article 33(3)).

2.2 Since **Claims 7-10 and 13-17** relate to uses and methods based on GlcDH's function as a marker and detector protein in a fusion protein with a target polypeptide, these claims appear to solve the above problem and so appear to be inventive. The use of GlcDH in fusion proteins to detect a target protein is neither disclosed in nor obvious from any of the available documents.

2.3 **Claims 11 and 12** relate to the optimization of expression with the aid of a fusion protein containing GlcDH. Claims 11 and 12 appear to satisfy the requirements of PCT Article 33(3), since the use of GlcDH cDNA in a recombinant expression vector to increase the yield and stability of the fusion protein is neither disclosed in nor obvious from any of the available documents.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/00978

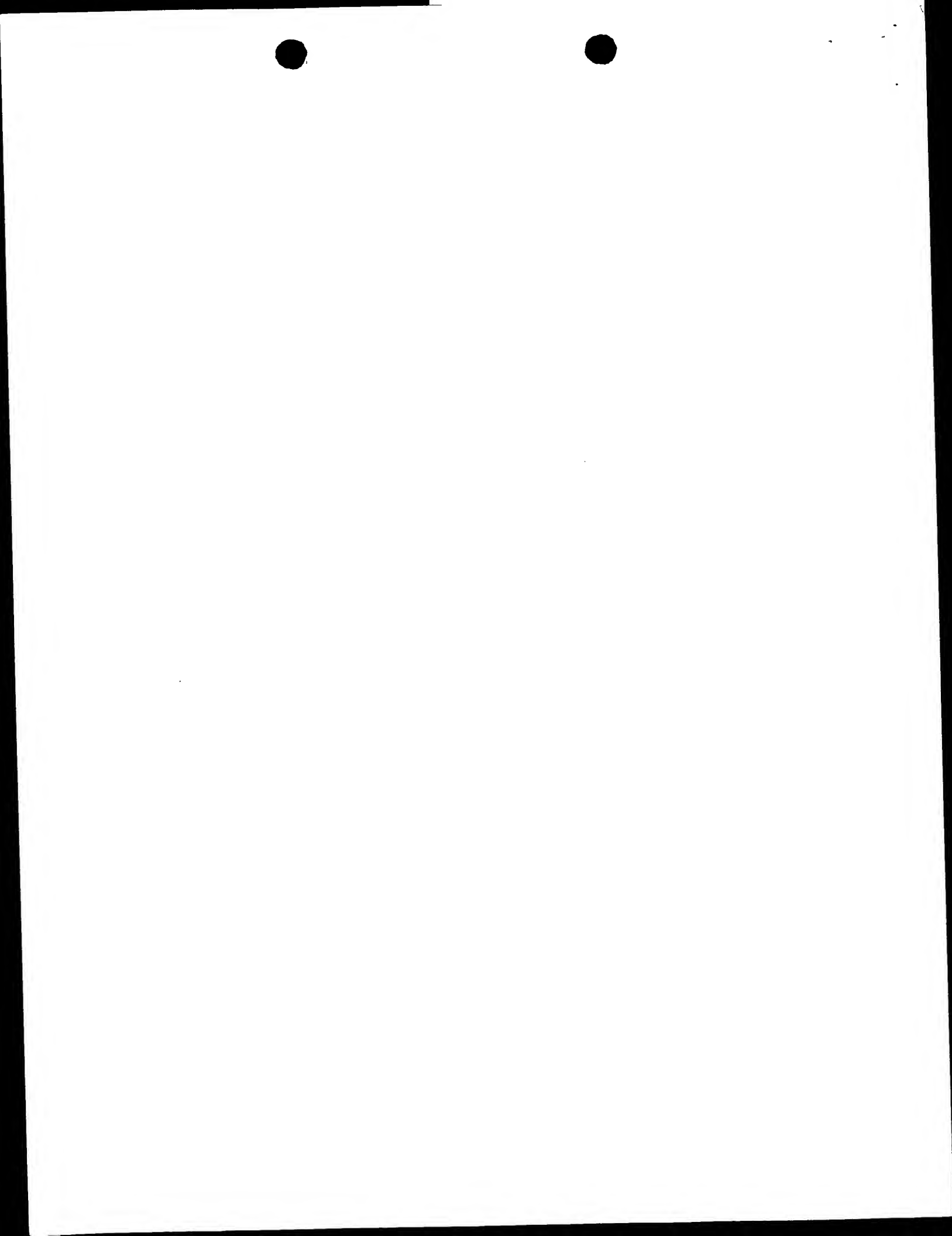
VI. Certain documents cited

1. Certain published documents (Rule 70.10)

Application No. Patent No.	Publication date (day/month/year)	Filing date (day/month/year)	Priority date (valid claim) (day/month/year)
EP-A- 967 271	29 December 1999 (29.12.1999)	01 September 1997 (01.09.1997)	07 February 1997 (07.02.1997) 30 April 1997 (30.04.1997)

2. Non-written disclosures (Rule 70.9)

Kind of non-written disclosure	Date of non-written disclosure (day/month/year)	Date of written disclosure referring to non-written disclosure (day/month/year)



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

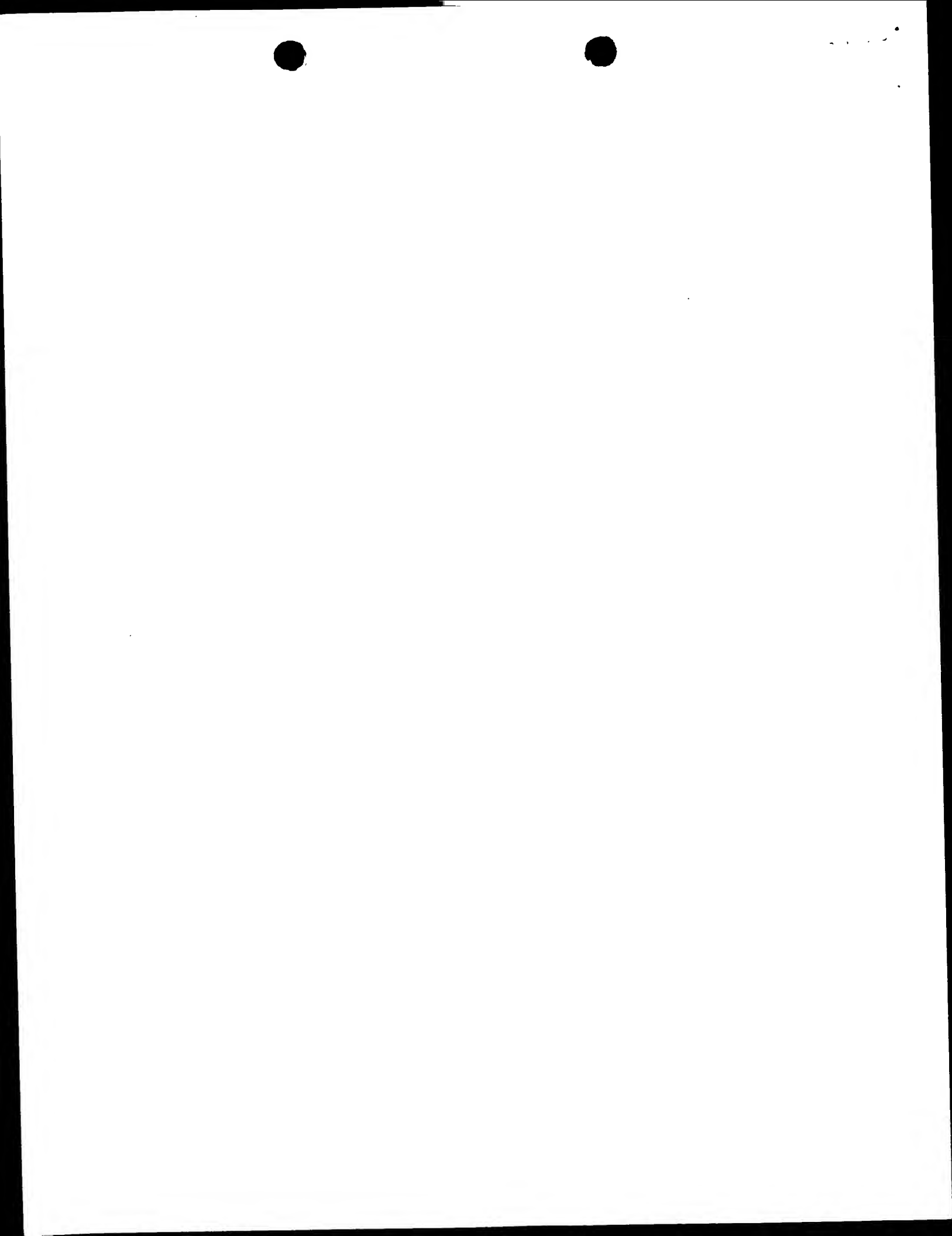
International application No.

PCT/EP 00/00978

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Contrary to PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not cite D1 or D2 or indicate the relevant prior art disclosed therein.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 00/00978

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

Claims 11 and 12 do not satisfy the requirements of PCT Article 6 for the following reasons:

- The term "optimization of expression" is not clear. It appears from the description that this might mean increasing the yield and stability of the fusion protein expressed (page 1, third paragraph).
- The same paragraph of the description states also that this applies only in "a number of cases". Claims 11 and 12 are not therefore fully supported by the description.

